

# 最終報告書

表題：イソトリデシル＝ステアラートの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：SR09205

株式会社 化合物安全性研究所

## 目 次

	頁
表紙 .....	1
目次 .....	4
要約 .....	8
緒言 .....	9
材料および方法 .....	9
成績 .....	17
考察 .....	18
表	
表 1 試験結果表(用量設定試験) .....	20
表 2 試験結果表(本試験) .....	21
図	
図 1-1 <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 の用量—反応曲線(直接法) .....	22
図 1-2 <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 の用量—反応曲線(代謝活性化法) .....	23
図 2-1 <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535 の用量—反応曲線(直接法) .....	24
図 2-2 <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535 の用量—反応曲線(代謝活性化法) .....	25
図 3-1 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA の用量—反応曲線(直接法) .....	26
図 3-2 <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA の用量—反応曲線(代謝活性化法) .....	27
図 4-1 <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 の用量—反応曲線(直接法) .....	28
図 4-2 <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 の用量—反応曲線(代謝活性化法) .....	29
図 5-1 <i>Salmonella typhimurium</i> TA1537 の用量—反応曲線(直接法) .....	30
図 5-2 <i>Salmonella typhimurium</i> TA1537 の用量—反応曲線(代謝活性化法) .....	31

## 要 約

イソトリデシル＝ステアラートの細菌における遺伝子突然変異誘発性の有無を、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA を用いる復帰突然変異試験により検討した。試験は、直接法(代謝活性化系 S9 mix の非存在下)および代謝活性化法(代謝活性化系 S9 mix の存在下)で、プレインキュベーション法により実施した。

用量設定試験では、直接法および代謝活性化法ともに被験物質の最高用量を 5000 µg/plate とし、以下公比約 3 で 6 段階の計 7 用量(5～5000 µg/plate)を設定した。本試験では、用量設定試験の結果に基づき、直接法および代謝活性化法ともに被験物質の最高用量を 5000 µg/plate とし、以下公比 2 で 5 段階の計 6 用量(156～5000 µg/plate)を設定した。

試験の結果、各菌株の直接法および代謝活性化法のいずれの試験系列においても、被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値は陰性対照群の平均値の 2 倍未満であり、用量の増加にともなう復帰変異コロニー数の増加も認められなかった。油滴状の被験物質の析出が、各菌株の直接法および代謝活性化法において 2500 µg/plate 以上の用量、または 5000 µg/plate の用量で観察された。生育阻害は各菌株のいずれの試験系列においても観察されなかった。このように、用量設定試験および本試験の結果には再現性が確認された。

用量設定試験および本試験のいずれにおいても、各菌株の陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は、すべて試験施設の背景データに基づく管理値の範囲内であった。各菌株の陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値には、それぞれの陰性対照群の平均値と比較して 2 倍以上の明確な増加が認められた。これらの結果から、各菌株が変異原物質に対し適切な感度を有していたことが確認された。

以上のことから、イソトリデシル＝ステアラートは当該試験条件下において試験菌株に対する遺伝子突然変異誘発性を有しないと判断した。

## 緒 言

イソトリデシル＝ステアラートの細菌における遺伝子突然変異誘発性の有無を、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA を用いる復帰突然変異試験により検討した。試験は、代謝活性化系(S9 mix)の非存在下(直接法)ならびに存在下(代謝活性化法)において、プレインキュベーション法により実施した。

## 材料および方法

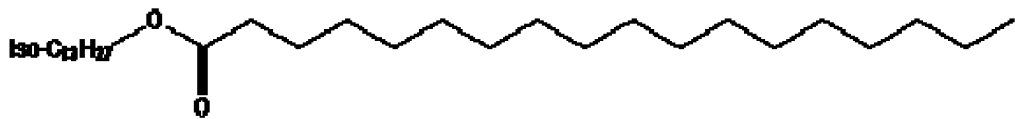
### 1. 被験物質

名称 : イソトリデシル＝ステアート  
 英語名 : Isotridecyl stearate  
 別名 : オクタデカン酸イソトリデシル  
           ステアリン酸イソトリデシルエステル  
           Octadecanoic acid isotridecyl ester  
 CAS No. : 31565-37-4

化審法官報公示整理番号 : 2-2489

分子式 :  $C_{31}H_{62}O_2$

示性式(構造式) :



分子量 : 466.835(日本化学物質辞書 Web. 化学物質情報詳細)、466.82278[化審法データベース(J-CHECK)]

物理化学的性質 : 外観 ; 液体(30℃)、淡黄色透明

臭い ; 特有臭気

引火点 ; 240℃

比重 ; 約 0.86

溶解度 ; 水溶解性のデータなし。低級アルコールに難溶、エーテル等の溶剤類に可溶。

試験施設において、蒸留水(日本薬局方注射用水)およびジメチルスルホキシドを用いて調製確認を行った。確認内容を、

2. 被験物質の調製、媒体の選択理由に記載した。

- 純度(GC/MS) : 71% (ステアリン酸とイソトリデカノールのエステル化物 71%、パルミチン酸とイソトリデカノールのエステル化物 29%) (資料 1)  
現状を、純度 100%として試験に使用した。
- 使用原料の成分比率 : 1) 脂肪酸原料成分(パルミチン酸 30%、ステアリン酸 69%、その他脂肪酸 1%)  
2) アルコール原料成分[イソトリデカノール(異性体混合物) 99%以上]
- 入手量 : 750 g×2 (関連試験と共に一括受入)
- 安定性 : 通常の取扱いにおいては、光、熱、衝撃に対して化学的に安定。  
試験操作の終了後、使用した被験物質に関する分析成績を入手して被験物質の物質変化がなかったことを確認し、被験物質は試験期間中安定であったと判断した(資料 2)。
- 保存条件 : 直射日光の当たらない通気のよい場所で容器を密閉し保存した(実測範囲 21~28℃)。火気、熱源より遠ざけた。
- 保存場所 : 株式会社 化合物安全性研究所 被験物質保存室(受入日 2010 年 4 月 26 日~6 月 23 日)および変異原性試験室[2010 年 6 月 23 日~本試験被験物質処理 2010 年 10 月 26 日]
- 取扱上の注意 : 保護手袋、保護眼鏡、保護面、保護衣を着用し、飛沫等が皮膚に付着したり、粉塵、ガスを吸入しないようにした。
- 残余被験物質の処置 : 試験操作終了後、安定性分析のため分析者へ送付した。

## 2. 被験物質の調製

- 調製方法 : 日本薬局方注射用水(ロット番号 9K88、株式会社大塚製薬工場)を用いて懸濁ならびに希釈し、所定の濃度に調製した。  
すなわち、用量設定試験では、50 mg/mL 調製液から日本薬局方注射用水を用いて公比約 3 で段階希釈し、15、5、1.5、0.5、0.15 および 0.05 mg/mL 調製液を調製した。  
本試験では、50 mg/mL 調製液から公比 2 で段階希釈し 25、12.5、6.25、3.13 および 1.56 mg/mL 調製液を調製した。
- 媒体の選択理由 : 被験物質はジメチルスルホキシド(500 mg/mL の濃度まで確認)と混合せず調製困難であったが、蒸留水(日本薬局方注射用水、100 mg/mL の濃

度まで確認)には均一に懸濁し、反応性はみられなかったため。

調製頻度 : 被験物質調製液は用時に調製し、用量設定試験および本試験ともに調製後 2.6 時間以内に使用した。

調製上の注意 : クリーンベンチ内で調製した。調製に際しては、保護眼鏡・保護面等、マスク、手袋および白衣等を着用し、吸引または眼、皮膚および衣類に触れないようにして取扱った。

調製液の安定性確認 : 用量設定試験および本試験ともに、被験物質調製時の目視確認において媒体との反応性(変色、発熱、発泡等)はみられなかった。

残余調製液の処理 : 残余調製液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

### 3. 陰性対照物質およびその調製

陰性対照物質として、被験物質の調製媒体である日本薬局方注射用水(ロット番号 9K88、株式会社大塚製薬工場)を、原液のまま使用した。

### 4. 陽性対照物質およびその調製

陽性対照物質として、次表の既知変異原物質を使用した。これらの陽性対照物質は、冷暗所(2~8℃設定)で保存した。

陽性対照物質は、含量補正をせずにそれぞれ次表の濃度に調製し、-20℃以下で分注凍結保存したものを解凍後 2.3 時間以内に使用した。調製液は、調製日より 2 ヶ月以内(使用期限: 調製後 1 年)に使用した。残余調製液は、焼却処分するために産業廃棄物として回収した。

陽性対照物質	調製濃度	調製媒体
2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド(含量 99.7%) ロット番号 STQ3987 和光純薬工業株式会社	0.1 および 1 µg/mL	ジメチルスルホキシド ロット番号 BT159 株式会社同仁化学研究所
アジ化ナトリウム(純度 100.6%) ロット番号 YCE7687 和光純薬工業株式会社	5 µg/mL	日本薬局方注射用水 ロット番号 9K88 株式会社大塚製薬工場
9-アミノアクリジン塩酸塩水和物(含量 98.4%) ロット番号 S16851 fluorochem	800 µg/mL	ジメチルスルホキシド ロット番号 BT159 株式会社同仁化学研究所
2-アミノアントラセン(含量 95.4%) ロット番号 KWL1226 和光純薬工業株式会社	5、10、20 および 100 µg/mL	ジメチルスルホキシド ロット番号 BT159 株式会社同仁化学研究所

### 5. 試験菌株

試験には、*Salmonella typhimurium* (以下 *S. typhimurium* と称する)TA100、TA1535、TA98 および TA1537 ならびに *Escherichia coli* (以下 *E. coli* と称する)WP2uvrA を使用した。これ

らの菌株は、1991年10月18日に国立衛生試験所(現 国立医薬品食品衛生研究所)より分与された。また、これらの菌株は遺伝毒性を有する化学物質の検索に適した細菌として広く受け入れられていることから選択した。

各菌株は、培養液 8 mL に対しジメチルスルホキシド(ロット番号 BT159、株式会社同仁化学研究所)0.7 mL を加え、-80℃以下で分注凍結保存した。各菌株の培養液の一部を用いて、菌株の特性(アミノ酸要求性、膜変異 *rfa* 特性、紫外線感受性、薬剤耐性)ならびに陰性対照値および陽性対照値について検査し、これらの特性が正常に保持されていることが確認された菌株を試験に使用した。

## 6. 培地

### (1) 前培養用培地

前培養用のニュートリエントブロス培地として、ニュートリエントブロス(OXOID NUTRIENT BROTH No. 2、ロット番号 464616、OXOID LTD.)を日本薬局方注射用水(ロット番号 9K88、株式会社大塚製薬工場)を用いて 25 g/L に調製した。*S. typhimurium* TA98 および TA100 の培地には、使用時にアンピシリンナトリウム(ロット番号 M8B0619、ナカライテスク株式会社)を 25 µg/mL となるように添加した。

### (2) 試験用培地(最少グルコース寒天培地：以下プレートと称する)

試験用培地として使用した最少グルコース寒天培地(バイタルメディア AMT-0 培地、ロット番号 DZLB7S01、2010年7月28日製造、極東製薬工業株式会社)1000 mL 中の組成は次表の通りである。

試験用培地 1000 mL 中の組成	
硫酸マグネシウム・7水塩	0.2 g
クエン酸・1水塩	2.0 g
リン酸二カリウム・無水塩	10.0 g
リン酸一アンモニウム	1.92 g
水酸化ナトリウム	0.66 g
ブドウ糖	20.0 g
寒天末[OXOID AGAR No. 1、ロット番号 1122136]	15.0 g

### (3) 重層用培地

次頁の表の組成のソフトアガー(A)およびアミノ酸溶液(B)を日本薬局方注射用水(ロット番号 9K88、株式会社大塚製薬工場)を用いて調製し、使用時に(A) : (B) = 10:1 の容量比で混合した。*S. typhimurium* には L-ヒスチジンおよび D-ビオチンのアミノ酸溶液を、*E. coli* には L-トリプトファンのアミノ酸溶液を使用した。これらの重層用培地は使用時まで 47℃に保温した。

## 重層用培地の組成

(A) ソフトアガー	
Bacto™ Agar (ロット番号 9131109、Becton, Dickinson and Company)	0.6 %
塩化ナトリウム (ロット番号 106P5602、関東化学株式会社)	0.5 %
(B) アミノ酸溶液	
L-ヒスチジンおよび D-ビオチン溶液 (L-ヒスチジン、ロット番号 WKK2889、和光純薬工業株式会社) (D-ビオチン、ロット番号 CDJ4769、和光純薬工業株式会社) または	各々 0.5 mmol/L
L-トリプトファン溶液 (L-トリプトファン、ロット番号 PEP6208、和光純薬工業株式会社)	0.5 mmol/L

## 7. S9 mix

S9 mix は、S9(ロット番号 RAA-618、2010 年 7 月 30 日製造、キッコーマン株式会社)、S9 mix 用 Cofactor (Cofactor-I、ロット番号 999001、オリエンタル酵母工業株式会社)および日本薬局方注射用水(ロット番号 9K88、株式会社大塚製薬工場)を用いて用時調製した。

S9 は、購入後 -80℃以下で凍結保存し、製造日より 3 ヶ月以内(使用期限：製造後 6 ヶ月)に使用した。この S9 は、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンの腹腔内投与で酵素誘導した Slc:SD 系ラット(雄、7 週齢)の肝ホモジネートより調製された。

S9 mix 1 mL 中の組成は次表の通りである。

S9 mix 1 mL 中の組成	
S9	0.1 mL
塩化マグネシウム	8 μmol
塩化カリウム	33 μmol
グルコース-6-リン酸	5 μmol
還元型ニコチンアミドアデニンヌクレオチドリン酸(NADPH)	4 μmol
還元型ニコチンアミドアデニンヌクレオチド(NADH)	4 μmol
リン酸ナトリウム緩衝液、pH 7.4	100 μmol

## 8. 試験群

## (1) 用量設定試験

各菌株につき、直接法(代謝活性化系 S9 mix の非存在下)および代謝活性化法(代謝活性化系 S9 mix の存在下)で試験を実施した。

直接法および代謝活性化法ともに被験物質の最高用量を 5000 μg/plate とし、以下公比約 3 で 6 段階の計 7 用量の試験群(5000、1500、500、150、50、15 および 5 μg/plate)を設定した。

## (2) 本試験

各菌株につき、直接法および代謝活性化法で試験を実施した。

用量設定試験の結果、被験物質による陽性反応は認められなかった。また、油滴状の被



験物質の析出が、各菌株の直接法および代謝活性化法において 5000 µg/plate の用量で観察された。生育阻害は各菌株のいずれの試験系列においても観察されなかった。

以上のことから、本試験は、直接法および代謝活性化法ともに被験物質の最高用量を 5000 µg/plate とし、以下公比 2 で 5 段階の計 6 用量の試験群(5000、2500、1250、625、313 および 156 µg/plate)を設定した。

### (3) 陰性対照群および陽性対照群

試験系列毎に陰性対照群(日本薬局方注射用水)および次表の陽性対照群を設定した。

試験菌株	陽性対照物質 (用量: µg/plate)	
	直接法	代謝活性化法
<i>S. typhimurium</i> TA100	AF-2 (0.01)	2-AA (1)
<i>S. typhimurium</i> TA1535	NaN <sub>3</sub> (0.5)	2-AA (2)
<i>E. coli</i> WP2uvrA	AF-2 (0.01)	2-AA (10)
<i>S. typhimurium</i> TA98	AF-2 (0.1)	2-AA (0.5)
<i>S. typhimurium</i> TA1537	9-AA (80)	2-AA (2)

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド  
 NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム、 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物  
 2-AA : 2-アミノアントラセン

### (4) プレート数およびプレートの識別

プレート数は、各試験群ともに 3 枚とした。

プレートには、試験番号および試験群を特定できるようにラベルを貼付した。

## 9. 試験方法

### (1) 試験菌株の前培養

容量約 40 mL の L 字管に前培養用培地(ニュートリエントブロス培地) 12 mL を入れ、解凍した保存菌を 12 µL 接種し、37°C、振幅 40 mm、振とう速度 100 回/分に設定した振盪恒温槽(Personal-11・EX、タイテック株式会社)で 10 時間の往復振とう培養を行った。なお、菌株の接種後 L 字管を、振とう培養開始まで用量設定試験では 7.2 時間、本試験では 7.4 時間冷却(氷浴)した。培養終了時に、得られた菌培養液の OD<sub>660nm</sub> を比色計(mini photo 518、タイテック株式会社)で測定し、各菌株の生菌数-OD<sub>660nm</sub> 相関式より生菌数を算出した。生菌数が 1×10<sup>9</sup> cells/mL より多いことが確認された培養液を試験に使用した。

各培養液の生菌数(計算値)は次表の通りであった。

試験菌株	生菌数(計算値)(×10 <sup>9</sup> cells/mL)	
	用量設定試験	本試験
<i>S. typhimurium</i> TA100	2.60	2.60
<i>S. typhimurium</i> TA1535	3.46	3.20
<i>E. coli</i> WP2uvrA	4.55	4.42
<i>S. typhimurium</i> TA98	2.91	2.91
<i>S. typhimurium</i> TA1537	1.45	1.45

## (2) 被験物質調製液および対象物質調製液の処理

被験物質調製液および対照物質調製液の処理は、プレインキュベーション法で行った。すなわち、蓋付きのポリエチレン製チューブ(5 mL 容量)を使用して、被験物質調製液あるいは対照物質調製液 0.1 mL に、直接法の場合は 0.1 mol/L Na-リン酸緩衝液(pH 7.4) 0.5 mL を、代謝活性化法の場合は S9 mix 0.5 mL を、それぞれ加えて混合し、さらに菌培養液 0.1 mL を加え、37°C、振幅 40 mm、振とう速度 100 回/分に設定した振盪恒温槽(Personal-11・EX、タイテック株式会社)で 20 分間振とう培養(プレインキュベーション)した。プレインキュベーション終了後、*S. typhimurium* には 0.05 mmol/L L-ヒスチジンおよび 0.05 mmol/L D-ビオチンを含む重層用培地 2 mL を、*E. coli* には 0.05 mmol/L L-トリプトファンを含む重層用培地 2 mL を、それぞれ加えて混和し、プレートに重層した。平坦な場所で重層用培地を固化させた後、37°Cに設定したインキュベーター(MIR-262、三洋電機株式会社)にプレートを入れ、49 時間の静置培養を行った。

また、試験実施の都度、試験に使用した被験物質調製液の最高濃度調製液および S9 mix について無菌試験を実施し、雑菌の混入の有無を確認した。

## (3) 観察

各試験系の陰性対照群、被験物質処理群および陽性対照群について、プレートにおける菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡(SZ6045TR、オリンパス光学工業株式会社)で確認するとともに、被験物質処理群について、プレートでの被験物質の析出の有無を目視確認した。次に、各試験系の陰性対照群、被験物質処理群および陽性対照群のプレートについて、コロニーアナライザー(CA-11D、システムサイエンス株式会社)を用いて復帰変異コロニー数の計測を行った。なお、被験物質の析出がコロニーアナライザー計数に影響すると考えられるプレートについては、実体顕微鏡を用いて復帰変異コロニー数の目視計測を行った。

生育阻害の有無の判定は以下の基準で行い、1 以上を生育阻害有とした。

0：生育阻害が認められない。

微細なバックグラウンドコロニー(50 倍程度の倍率で観察可能)が培地一面に観察され、陰性対照群のバックグラウンドコロニーとの差が認められない場合。

1：わずかな生育阻害が認められる。

陰性対照群に比べ、バックグラウンドコロニーが減少して個々のコロニーの大きさが大きくなっている場合。

2：中程度の生育阻害が認められる。

隆起した大きな復帰変異コロニーと、平坦で小さなバックグラウンドコロニーが並存している場合。

3：強い生育阻害が認められる。

バックグラウンドコロニーが復帰変異コロニーと同程度の大きさまで成長し、両者の判別が困難である場合。

4：生存菌が全く認められない。

#### (4) 観察結果の集計方法

各試験系の陰性対照群、被験物質処理群(用量毎)および陽性対照群について、復帰変異コロニー数の平均値±標準偏差をもとめた。

### 10. 試験結果の評価

#### (1) 試験系の感度確認

各試験系の陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値が試験施設の背景データに基づく管理値の範囲内であり、かつ、各試験系の陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値が陰性対照群の平均値の 2 倍以上である場合に、試験系が適切な感度を有しているものと判断した。

#### (2) 試験結果の判定基準

少なくとも1つの試験系において、被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値が陰性対照群の平均値の 2 倍以上となり、かつ被験物質用量の増加にともなう復帰変異コロニー数の増加が再現性を持って認められた場合に陽性と判定することとした。試験結果の判定にあたって、統計学的手法は用いなかった。

#### (3) 変異原比活性の算出

当該試験において陽性結果は得られなかったことから、変異原比活性の算出は実施しなかった。

## 成 績

用量設定試験の結果を表 1 に、本試験の結果を表 2 に、被験物質用量と復帰変異コロニー数の用量-反応曲線を図 1-1～5-2 に示す。

用量設定試験(5～5000 µg/plate)の結果、いずれの菌株においても、被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値は陰性対照群の平均値の 2 倍未満であり、用量の増加にともなう復帰変異コロニー数の増加もみられなかった。油滴状の被験物質の析出が、各菌株の直接法および代謝活性化法において 5000 µg/plate の用量で観察された。生育阻害は各菌株のいずれの試験系列においても観察されなかった。

本試験(156～5000 µg/plate)の結果、いずれの菌株においても、被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値は陰性対照群の平均値の 2 倍未満であり、用量の増加にともなう復帰変異コロニー数の増加もみられなかった。油滴状の被験物質の析出が、各菌株の直接法および代謝活性化法において 2500 および 5000 µg/plate の用量で観察された。生育阻害は各菌株のいずれの試験系列においても観察されなかった。

各菌株の陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は、すべて試験施設の背景データに基づく管理値(資料 3)の範囲内であり、また、陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は、すべて陰性対照群の平均値の 2 倍以上であった。

用量設定試験および本試験いずれの無菌試験においても、被験物質調製液の最高濃度および S9 mix に雑菌の混入はみられなかった。

## 考 察

イソトリデシル＝ステアラートの細菌における遺伝子突然変異誘発性の有無を、*S. typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *E. coli* WP2uvrA を用いる復帰突然変異試験により検討した。

用量設定試験を、被験物質の最高用量を 5000 µg/plate とし、以下公比約 3 で 6 段階の計 7 用量の試験群で実施した。本試験は、用量設定試験の結果から、直接法および代謝活性化法ともに被験物質の最高用量を 5000 µg/plate とし、以下公比 2 で 5 段階の計 6 用量の試験群を設定して実施した。

試験の結果、各菌株の直接法および代謝活性化法のいずれの試験系列においても、被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値は陰性対照群の平均値の 2 倍未満であり、用量の増加にともなう復帰変異コロニー数の増加も認められなかった。油滴状の被験物質の析出が、各菌株の直接法および代謝活性化法において 2500 µg/plate 以上の用量、または 5000 µg/plate の用量で観察された。生育阻害は各菌株のいずれの試験系列においても観察されなかった。このように、用量設定試験および本試験の結果には再現性が確認された。

用量設定試験および本試験のいずれにおいても、各菌株の陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は、すべて試験施設の背景データに基づく管理値の範囲内であった。各菌株の陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値には、それぞれの陰性対照群の平均値と比較して 2 倍以上の明確な増加が認められた。これらの結果から、各菌株が変異原物質に対し適切な感度を有していたことが確認された。

以上のことから、イソトリデシル＝ステアラートは当該試験条件下において試験菌株に対する遺伝子突然変異誘発性を有しないと判断した。

## 試 験 結 果 表 (用量設定試験)

被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

試験実施期間		2010年10月19日～2010年10月21日					
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 ( $\mu$ g/プレート)	復帰変異数(コロニー数/プレート)					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 $uvr$ A	TA98	TA1537	
-S9 mix	陰性対照	124 , 135 129 (129 $\pm$ 6)	2 , 16 6 (8 $\pm$ 7)	18 , 18 16 (17 $\pm$ 1)	26 , 42 30 (33 $\pm$ 8)	11 , 15 21 (16 $\pm$ 5)	
	5	117 , 119 111 (116 $\pm$ 4)	9 , 8 17 (11 $\pm$ 5)	20 , 18 21 (20 $\pm$ 2)	29 , 25 40 (31 $\pm$ 8)	10 , 18 32 (20 $\pm$ 11)	
	15	105 , 128 102 (112 $\pm$ 14)	7 , 7 18 (11 $\pm$ 6)	12 , 22 19 (18 $\pm$ 5)	41 , 39 38 (39 $\pm$ 2)	15 , 13 16 (15 $\pm$ 2)	
	50	121 , 146 138 (135 $\pm$ 13)	6 , 18 7 (10 $\pm$ 7)	21 , 30 21 (24 $\pm$ 5)	21 , 42 36 (33 $\pm$ 11)	19 , 7 13 (13 $\pm$ 6)	
	150	115 , 120 124 (120 $\pm$ 5)	9 , 13 15 (12 $\pm$ 3)	14 , 13 15 (14 $\pm$ 1)	42 , 35 37 (38 $\pm$ 4)	16 , 9 9 (11 $\pm$ 4)	
	500	125 , 130 134 (130 $\pm$ 5)	9 , 5 11 (8 $\pm$ 3)	23 , 17 18 (19 $\pm$ 3)	26 , 35 44 (35 $\pm$ 9)	12 , 14 11 (12 $\pm$ 2)	
	1500	137 , 133 132 (134 $\pm$ 3)	7 , 7 10 (8 $\pm$ 2)	11 , 18 22 (17 $\pm$ 6)	45 , 46 31 (41 $\pm$ 8)	9 , 11 11 (10 $\pm$ 1)	
	5000†	139 , 139 127 (135 $\pm$ 7)	8 , 13 8 (10 $\pm$ 3)	23 , 18 25 (22 $\pm$ 4)	54 , 41 29 (41 $\pm$ 13)	19 , 12 20 (17 $\pm$ 4)	
+S9 mix	陰性対照	102 , 157 163 (141 $\pm$ 34)	15 , 10 7 (11 $\pm$ 4)	24 , 21 29 (25 $\pm$ 4)	55 , 28 29 (37 $\pm$ 15)	12 , 16 10 (13 $\pm$ 3)	
	5	148 , 180 162 (163 $\pm$ 16)	11 , 4 21 (12 $\pm$ 9)	26 , 21 24 (24 $\pm$ 3)	44 , 38 33 (38 $\pm$ 6)	7 , 8 13 (9 $\pm$ 3)	
	15	146 , 153 138 (146 $\pm$ 8)	11 , 26 16 (18 $\pm$ 8)	26 , 19 27 (24 $\pm$ 4)	49 , 51 40 (47 $\pm$ 6)	16 , 13 14 (14 $\pm$ 2)	
	50	158 , 167 158 (161 $\pm$ 5)	7 , 16 10 (11 $\pm$ 5)	19 , 20 18 (19 $\pm$ 1)	48 , 32 40 (40 $\pm$ 8)	14 , 22 12 (16 $\pm$ 5)	
	150	176 , 158 187 (174 $\pm$ 15)	16 , 12 11 (13 $\pm$ 3)	28 , 23 23 (25 $\pm$ 3)	54 , 45 41 (47 $\pm$ 7)	19 , 15 16 (17 $\pm$ 2)	
	500	151 , 193 163 (169 $\pm$ 22)	12 , 22 12 (15 $\pm$ 6)	21 , 33 31 (28 $\pm$ 6)	42 , 45 49 (45 $\pm$ 4)	13 , 12 18 (14 $\pm$ 3)	
	1500	167 , 187 182 (179 $\pm$ 10)	13 , 12 12 (12 $\pm$ 1)	18 , 22 27 (22 $\pm$ 5)	34 , 35 51 (40 $\pm$ 10)	17 , 17 15 (16 $\pm$ 1)	
	5000†	177 , 151 174 (167 $\pm$ 14)	15 , 20 20 (18 $\pm$ 3)	38 , 52 36 (42 $\pm$ 9)	64 , 47 52 (54 $\pm$ 9)	23 , 11 11 (15 $\pm$ 7)	
陽性	S9 mixを必要としないもの	名 称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
		用量( $\mu$ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
対照	S9 mixを必要とするもの	コロニー数/プレート	754 , 722 686 (721 $\pm$ 34)	343 , 347 366 (352 $\pm$ 12)	69 , 63 77 (70 $\pm$ 7)	500 , 515 535 (517 $\pm$ 18)	212 , 255 373 (280 $\pm$ 83)
		名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量( $\mu$ g/プレート)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/プレート	1383 , 1468 1310 (1387 $\pm$ 79)	330 , 333 371 (345 $\pm$ 23)	1083 , 1122 1142 (1116 $\pm$ 30)	396 , 368 436 (400 $\pm$ 34)	205 , 180 217 (201 $\pm$ 19)

( ) : 各プレートのコロニー数の平均値および標準偏差

† : 被験物質の析出

陰性対照 : 日本薬局方注射用水

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

2-AA : 2-アミノアントラセン

表2

## 試験結果表 (本試験)

被験物質の名称 : イソトリゲシル=ステアラート

試験実施期間		2010年10月26日～2010年10月28日					
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 ( $\mu$ g/プレート)	復帰変異数(コロニー数/プレート)					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 $uvr$ A	TA98	TA1537	
-S9 mix	陰性対照	118, 126 163 (136 $\pm$ 24)	10, 10 11 (10 $\pm$ 1)	22, 20 36 (26 $\pm$ 9)	29, 26 24 (26 $\pm$ 3)	17, 13 18 (16 $\pm$ 3)	
	156	152, 151 118 (140 $\pm$ 19)	12, 15 8 (12 $\pm$ 4)	19, 19 15 (18 $\pm$ 2)	23, 28 19 (23 $\pm$ 5)	20, 17 19 (19 $\pm$ 2)	
	313	164, 159 142 (155 $\pm$ 12)	13, 8 9 (10 $\pm$ 3)	16, 21 16 (18 $\pm$ 3)	18, 22 27 (22 $\pm$ 5)	11, 14 6 (10 $\pm$ 4)	
	625	160, 154 167 (160 $\pm$ 7)	13, 10 12 (12 $\pm$ 2)	12, 18 31 (20 $\pm$ 10)	34, 32 30 (32 $\pm$ 2)	14, 22 16 (17 $\pm$ 4)	
	1250	158, 114 136 (136 $\pm$ 22)	5, 11 15 (10 $\pm$ 5)	18, 26 14 (19 $\pm$ 6)	15, 29 30 (25 $\pm$ 8)	22, 11 12 (15 $\pm$ 6)	
	2500 †	118, 140 153 (137 $\pm$ 18)	12, 15 8 (12 $\pm$ 4)	22, 17 13 (17 $\pm$ 5)	24, 27 20 (24 $\pm$ 4)	12, 8 11 (10 $\pm$ 2)	
	5000 †	138, 131 148 (139 $\pm$ 9)	12, 8 10 (10 $\pm$ 2)	13, 20 16 (16 $\pm$ 4)	21, 22 20 (21 $\pm$ 1)	13, 15 12 (13 $\pm$ 2)	
+S9 mix	陰性対照	149, 157 205 (170 $\pm$ 30)	7, 7 9 (8 $\pm$ 1)	16, 20 21 (19 $\pm$ 3)	28, 38 35 (34 $\pm$ 5)	10, 10 15 (12 $\pm$ 3)	
	156	189, 158 178 (175 $\pm$ 16)	13, 9 13 (12 $\pm$ 2)	28, 18 23 (23 $\pm$ 5)	42, 31 31 (35 $\pm$ 6)	10, 8 12 (10 $\pm$ 2)	
	313	146, 162 170 (159 $\pm$ 12)	14, 10 10 (11 $\pm$ 2)	23, 30 17 (23 $\pm$ 7)	30, 42 23 (32 $\pm$ 10)	13, 15 7 (12 $\pm$ 4)	
	625	178, 176 182 (179 $\pm$ 3)	12, 10 14 (12 $\pm$ 2)	31, 26 20 (26 $\pm$ 6)	43, 36 43 (41 $\pm$ 4)	12, 18 6 (12 $\pm$ 6)	
	1250	202, 157 161 (173 $\pm$ 25)	10, 8 10 (9 $\pm$ 1)	25, 24 36 (28 $\pm$ 7)	42, 42 31 (38 $\pm$ 6)	8, 14 14 (12 $\pm$ 3)	
	2500 †	168, 181 157 (169 $\pm$ 12)	8, 6 6 (7 $\pm$ 1)	25, 27 19 (24 $\pm$ 4)	37, 37 40 (38 $\pm$ 2)	14, 13 16 (14 $\pm$ 2)	
	5000 †	187, 217 160 (188 $\pm$ 29)	12, 6 8 (9 $\pm$ 3)	42, 22 24 (29 $\pm$ 11)	49, 32 26 (36 $\pm$ 12)	7, 11 8 (9 $\pm$ 2)	
陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
		用量( $\mu$ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
陽性対照	S9 mixを必要とするもの	コロニー数/プレート	664, 699 740 (701 $\pm$ 38)	261, 284 302 (282 $\pm$ 21)	96, 79 68 (81 $\pm$ 14)	484, 459 469 (471 $\pm$ 13)	219, 342 432 (331 $\pm$ 107)
		名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量( $\mu$ g/プレート)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/プレート	1376, 1432 1415 (1408 $\pm$ 29)	338, 326 369 (344 $\pm$ 22)	1150, 1187 1213 (1183 $\pm$ 32)	392, 360 700 (484 $\pm$ 188)	232, 175 200 (202 $\pm$ 29)

( ) : 各プレートのコロニー数の平均値および標準偏差

† : 被験物質の析出

陰性対照 : 日本薬局方注射用水

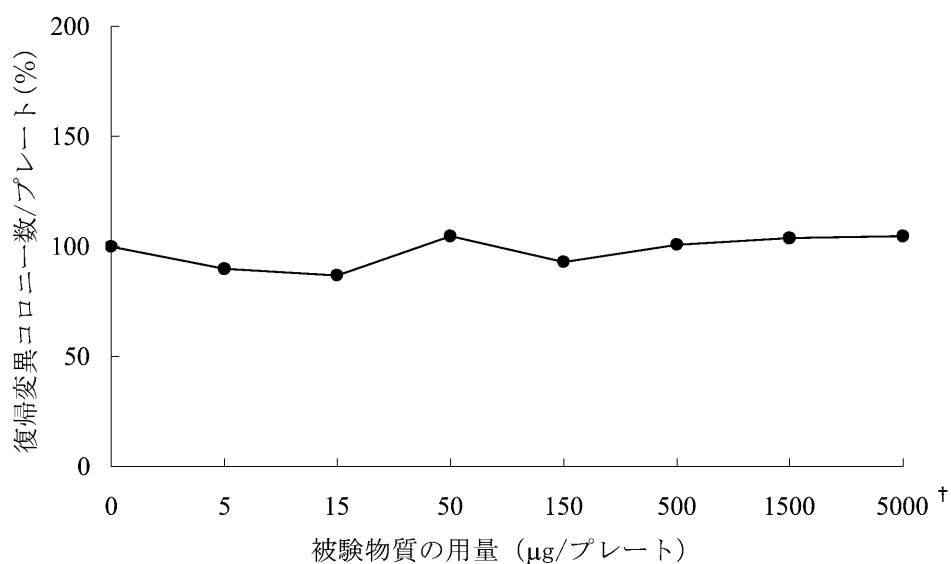
AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩水和物

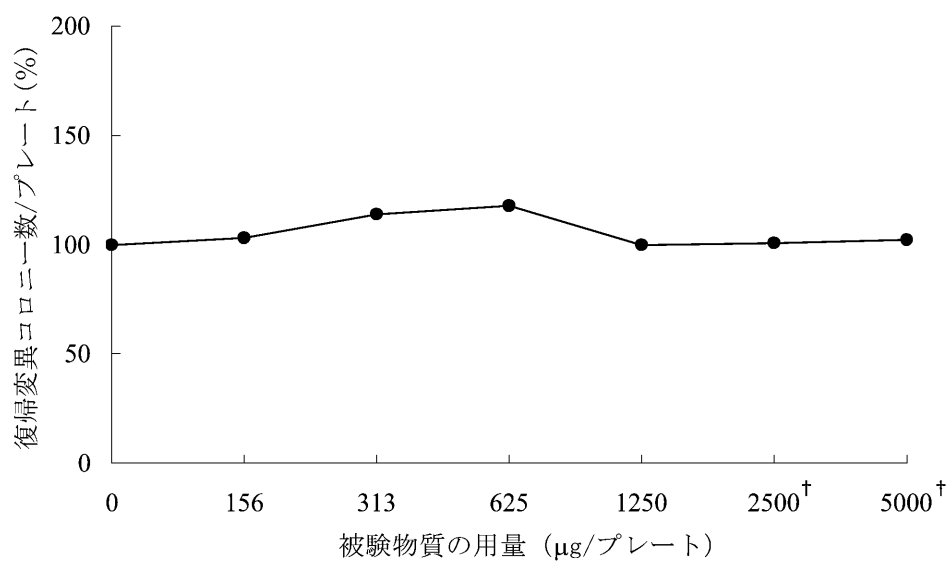
NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

2-AA : 2-アミノアントラセン

〔TA100, S9(-), 用量設定試験〕



〔TA100, S9(-), 本試験〕



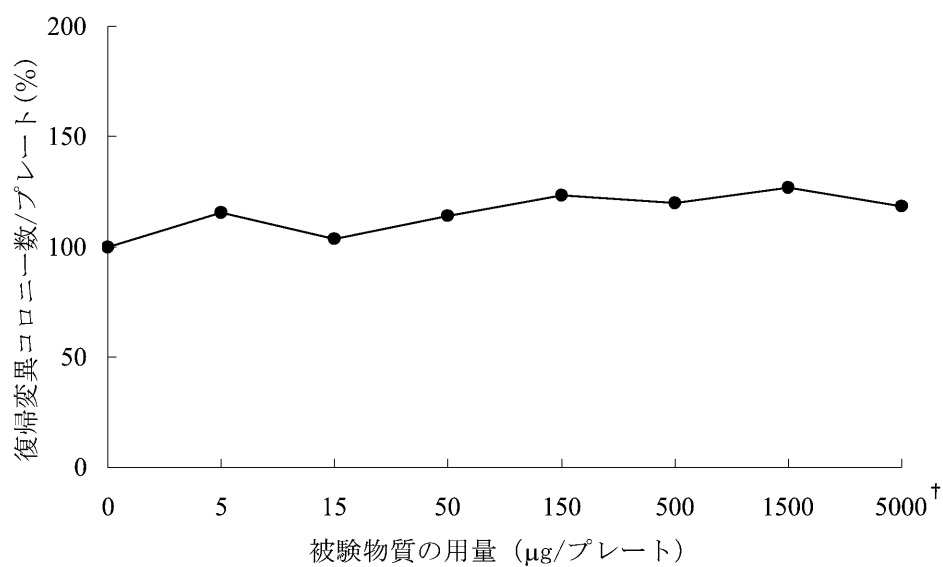
被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

図 1-1 *Salmonella typhimurium* TA100 の用量—反応曲線 (直接法)

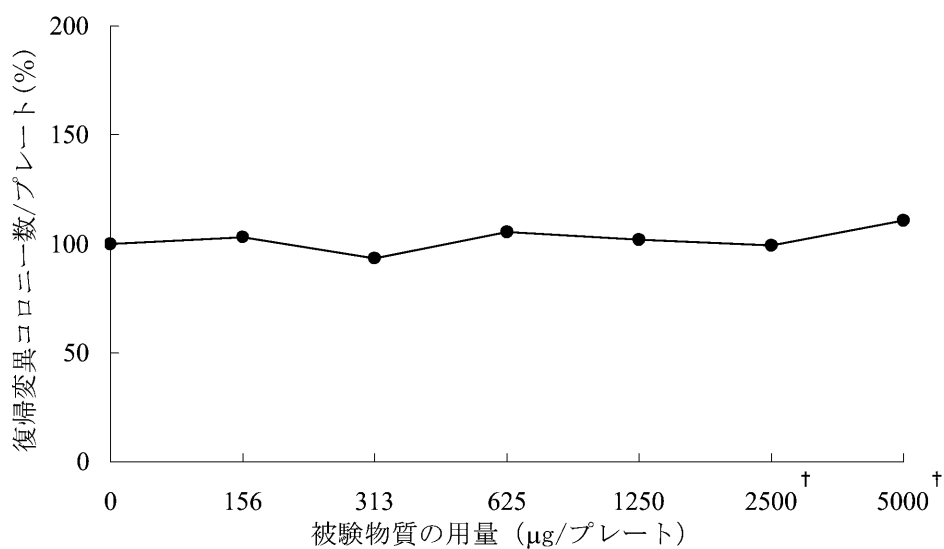
† : 被験物質の析出



〔 TA100, S9(+), 用量設定試験 〕



〔 TA100, S9(+), 本試験 〕

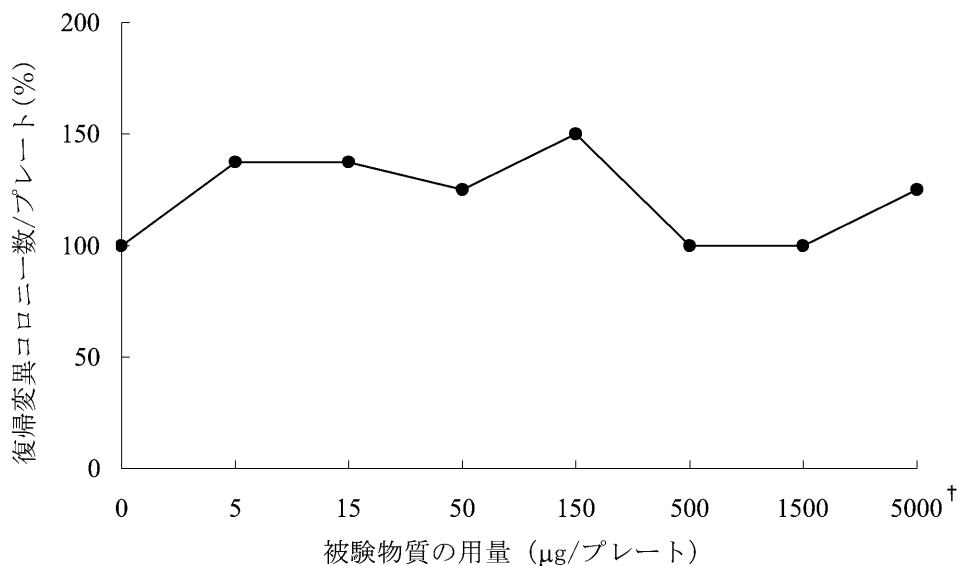


被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

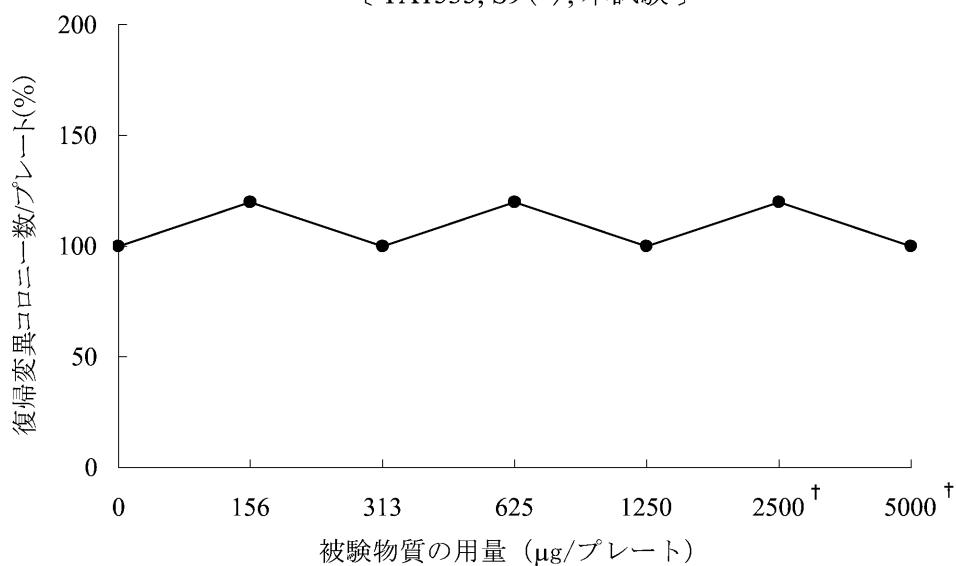
図 1-2 *Salmonella typhimurium* TA100 の用量—反応曲線  
(代謝活性化法)

† : 被験物質の析出

〔TA1535, S9(-), 用量設定試験〕



〔TA1535, S9(-), 本試験〕

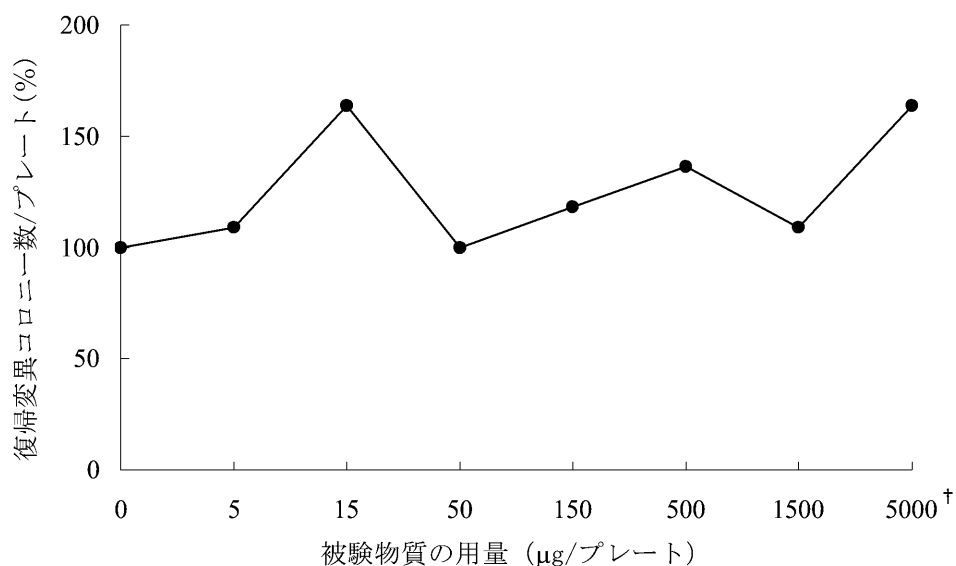


被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

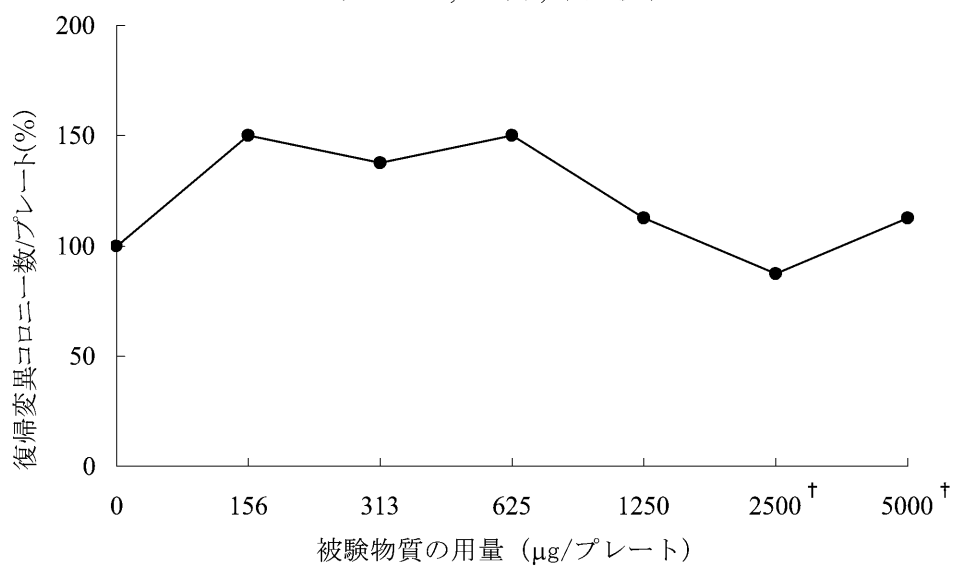
図 2-1 *Salmonella typhimurium* TA1535 の用量—反応曲線 (直接法)

† : 被験物質の析出

〔TA1535, S9(+), 用量設定試験〕



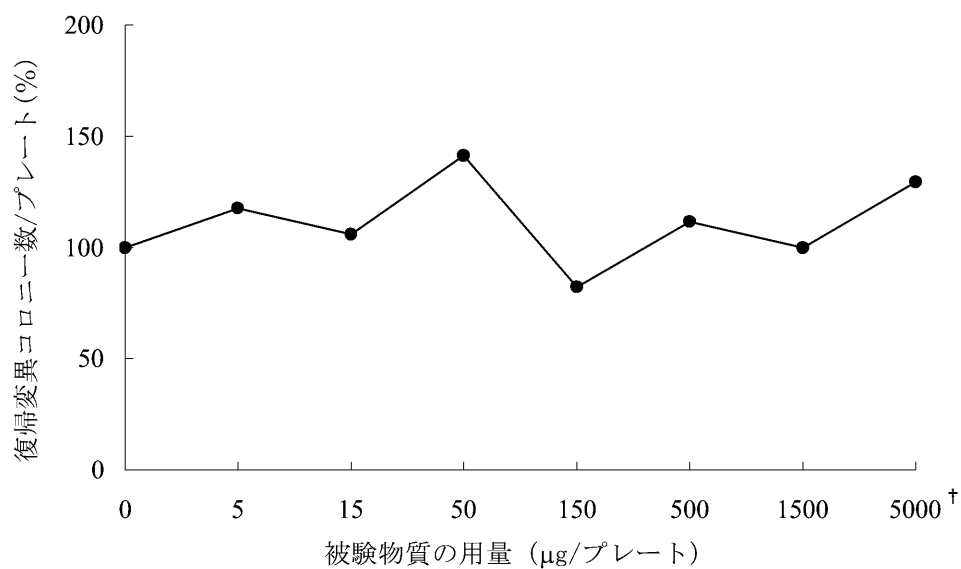
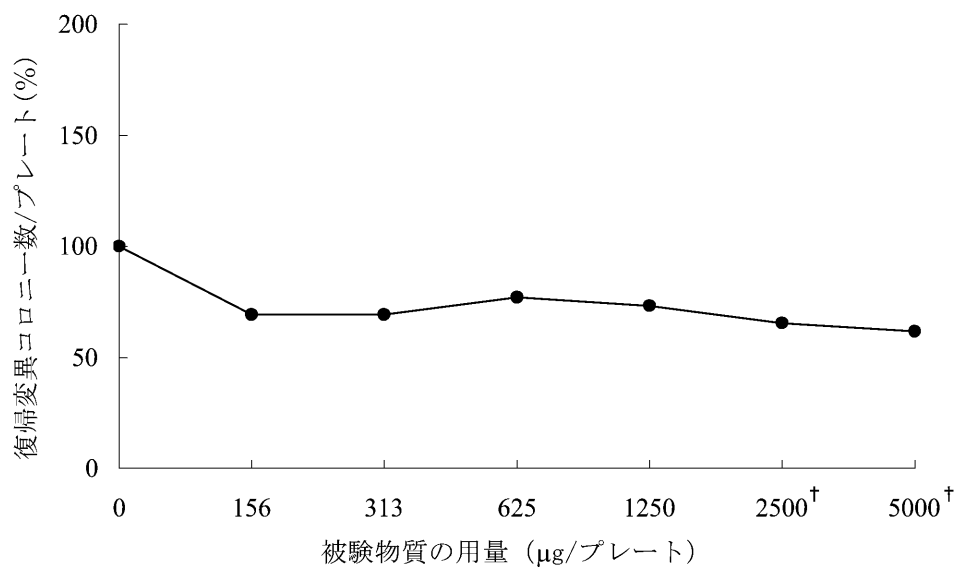
〔TA1535, S9(+), 本試験〕



被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

図 2-2 *Salmonella typhimurium* TA1535 の用量—反応曲線  
(代謝活性化法)

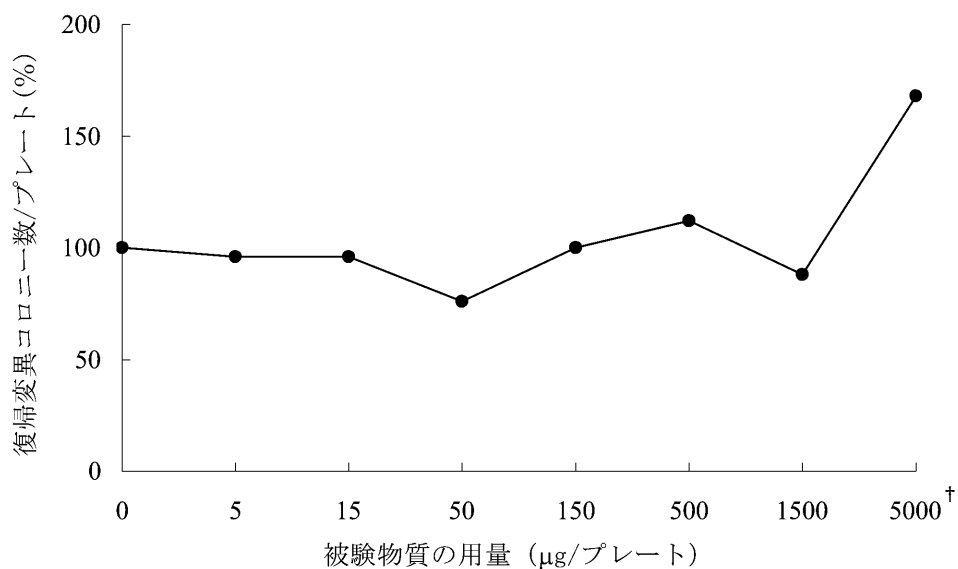
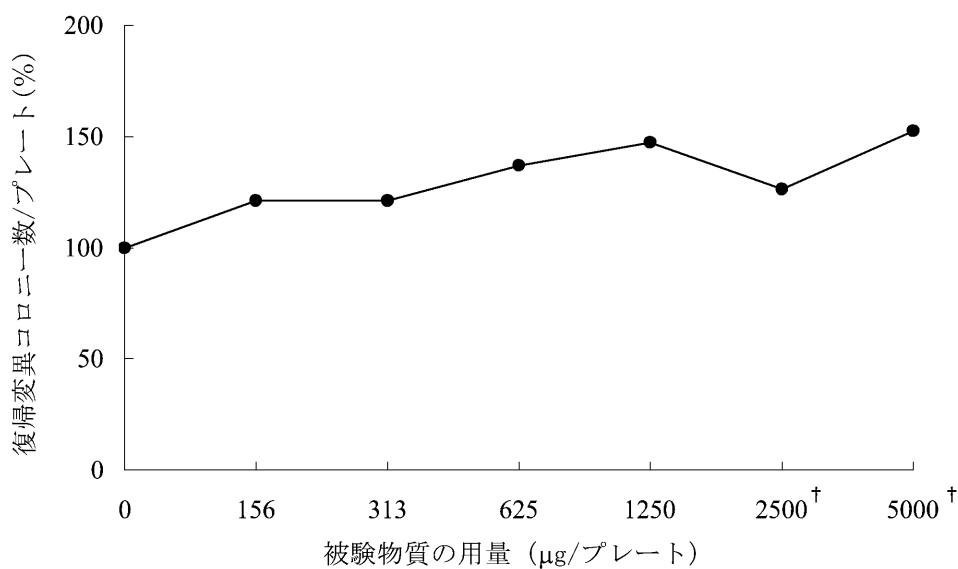
† : 被験物質の析出

〔 WP2<sub>uvr</sub> A, S9(-), 用量設定試験 〕〔 WP2<sub>uvr</sub> A, S9(-), 本試験 〕

被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

図 3-1 *Escherichia coli* WP2<sub>uvr</sub> A の用量—反応曲線(直接法)

† : 被験物質の析出

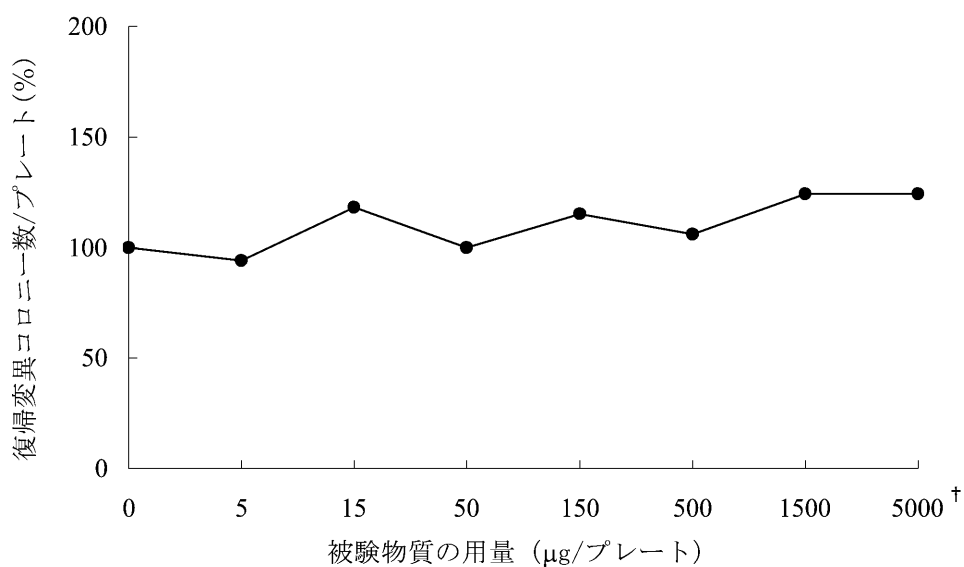
〔 WP2<sub>uvr</sub> A, S9(+), 用量設定試験 〕〔 WP2<sub>uvr</sub> A, S9(+), 本試験 〕

被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

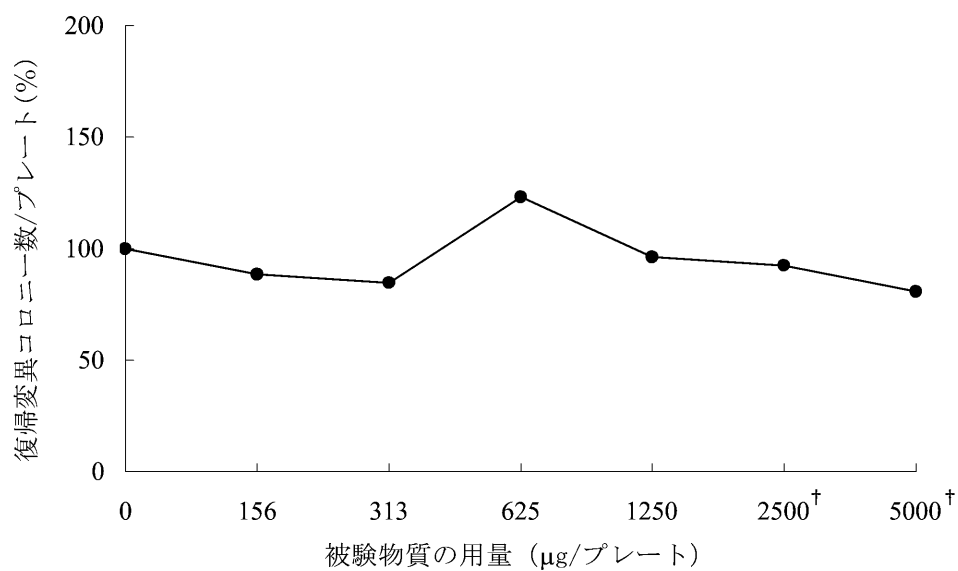
図 3-2 *Escherichia coli* WP2<sub>uvr</sub> A の用量—反応曲線  
(代謝活性化法)

† : 被験物質の析出

〔TA98, S9(-), 用量設定試験〕



〔TA98, S9(-), 本試験〕

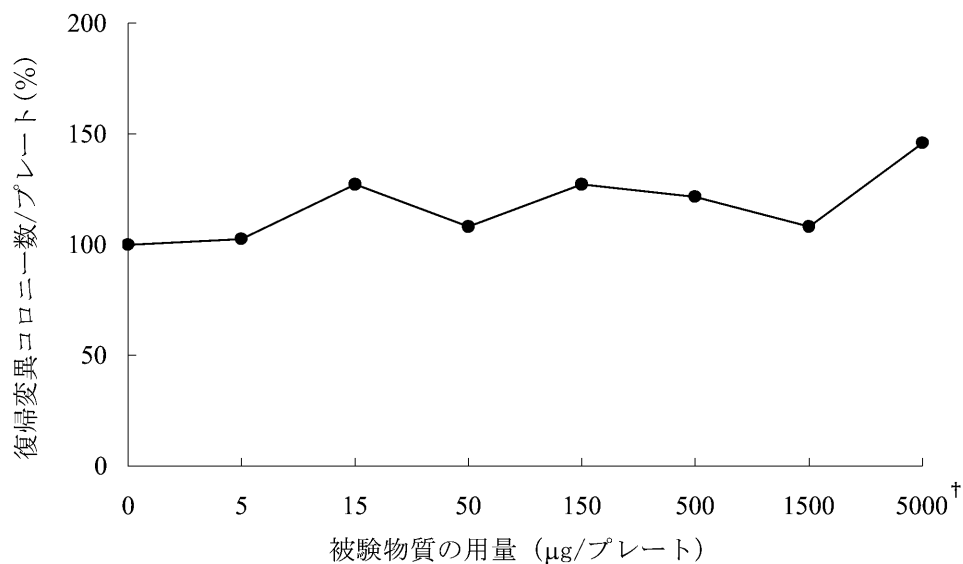


被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

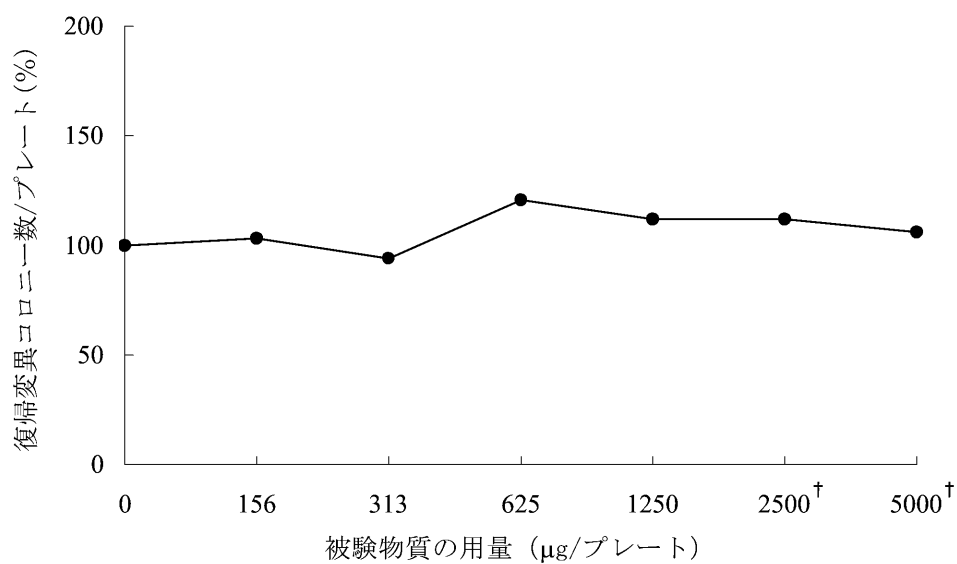
図 4-1 *Salmonella typhimurium* TA98 の用量—反応曲線 (直接法)

† : 被験物質の析出

〔TA98, S9(+), 用量設定試験〕



〔TA98, S9(+), 本試験〕

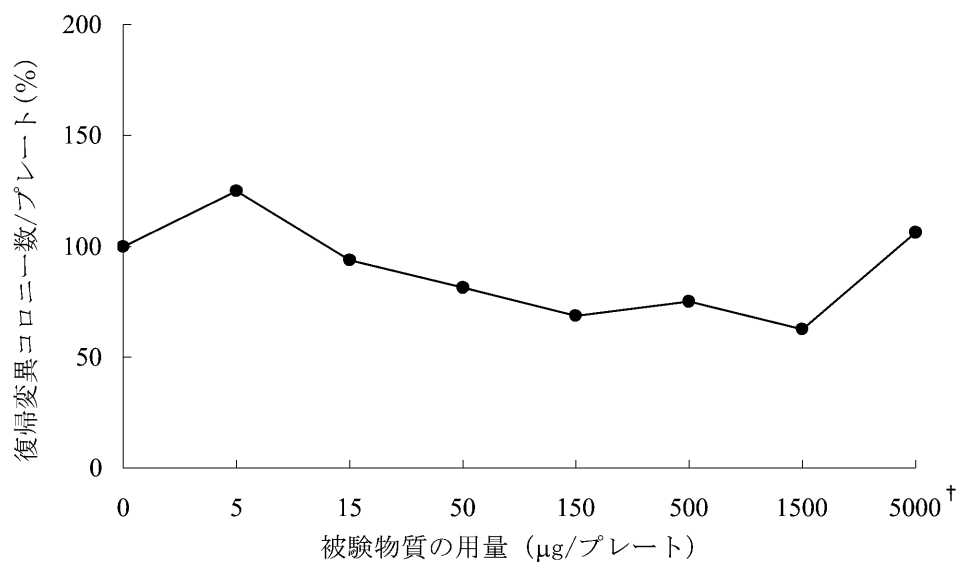


被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

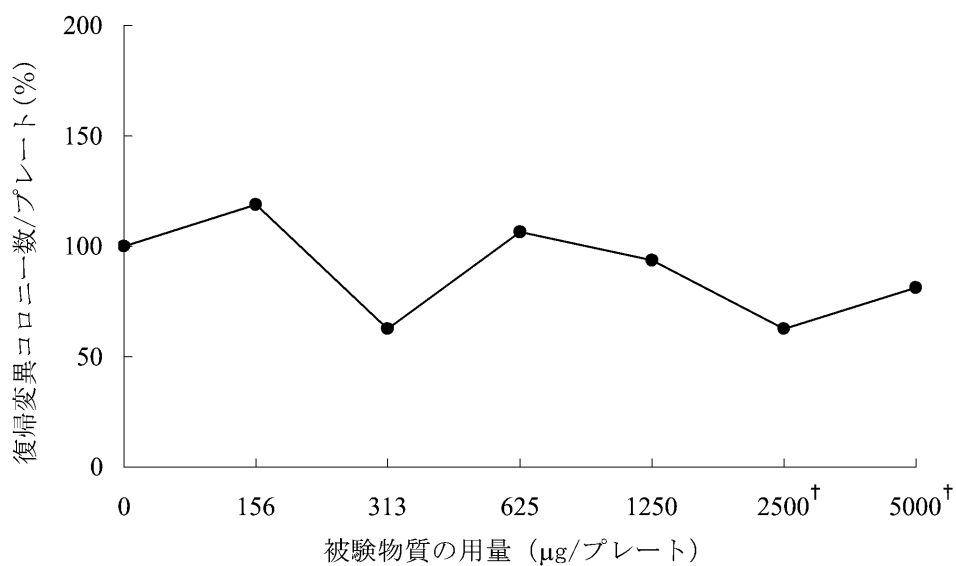
図 4-2 *Salmonella typhimurium* TA98 の用量—反応曲線  
(代謝活性化法)

† : 被験物質の析出

〔TA1537, S9(-), 用量設定試験〕



〔TA1537, S9(-), 本試験〕



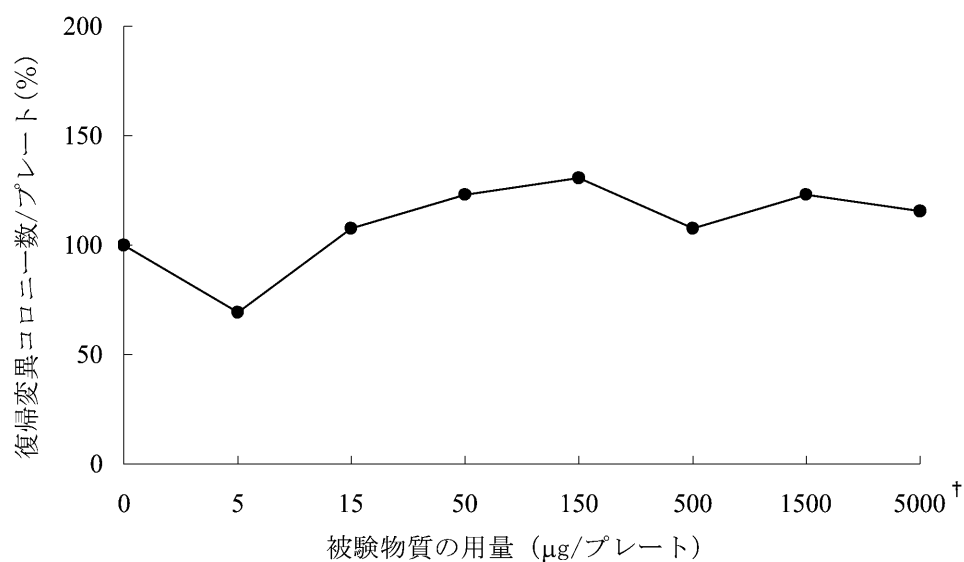
被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

図 5-1 *Salmonella typhimurium* TA1537 の用量—反応曲線 (直接法)

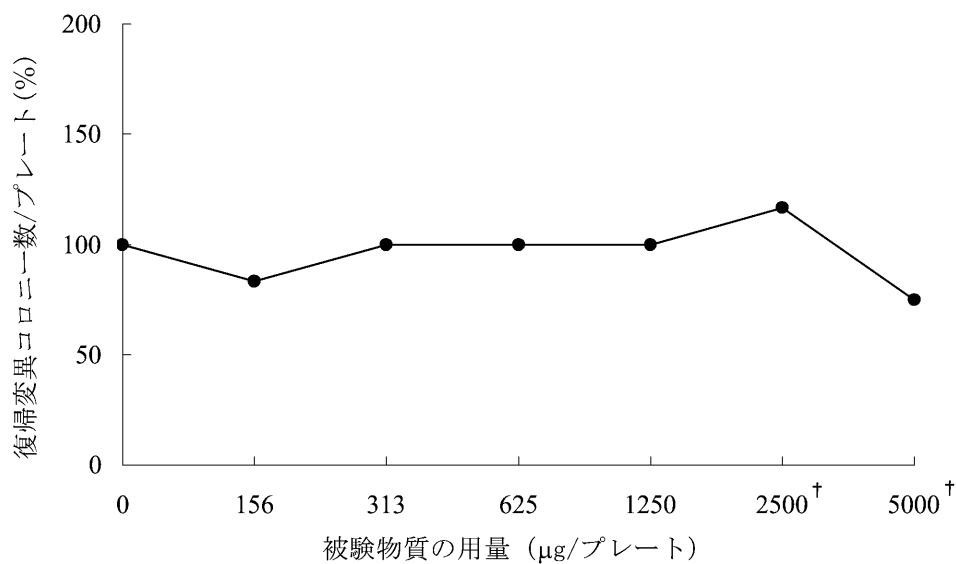
† : 被験物質の析出



〔TA1537, S9(+), 用量設定試験〕



〔TA1537, S9(+), 本試験〕



被験物質の名称 : イソトリデシル=ステアラート

図 5-2 *Salmonella typhimurium* TA1537 の用量—反応曲線  
(代謝活性化法)

† : 被験物質の析出